

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H.P. Wolff)

DIE AUSSCHIEDUNG DER SERUMAMYLASE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Hans Cölle
aus München

Mainz 1973

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof.Dr. H.P. Wolff)

DIE AUSSCHIEDUNG DER SERUMAMYLASE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Hans Cölle
aus München

Mainz 1973

Fachbereichsdekan: Prof. Dr. J. Fischer

Referent: Prof. Dr. H.J. Weis

Korreferent: Prof. Dr. K. Ewe



Meiner Frau

GLIEDERUNG

1.	<u>EINLEITUNG</u>	
1.1	Pankreatitis: Klinik und Diagnostik	1 - 2
1.2	Serumamylaseerhöhung und Nierenclearance	2
1.3	Weitere Eliminationswege	2 - 3
2.	<u>MATERIAL UND METHODE</u>	
2.1	Serumamylase bei Hämodialyse	4
2.2	Amylaseinjektion bei Ratten	4 - 5
2.3	Nephrektomieversuche	5 - 6
2.4	Inkubation von Amylase mit Organhomogenaten der Ratte	6 - 7
2.5	Amylasebestimmungsmethoden	7 - 8
2.5.1	Colorimetrische Verfahren	8
2.6	Berechnung des Amylasegrundumsatzes der Ratte	8 - 10
3.	<u>ERGEBNISSE</u>	
3.1	Serumamylase bei chronisch Nierenkranken; Beeinflussung durch Hämodialyse	11 - 12
3.2	Elimination von Serumamylase bei nephrektomierten Ratten und Kontrolltieren	12 - 13
3.3	Prozentuale Beteiligung der Niere bei der Amylaseeliminierung	13 - 15
	Pharmakokinetische Parameter	
3.4	Inkubation von Amylase mit Organhomogenaten der Ratte	15
4.	<u>DISKUSSION</u>	
4.1	Schwierigkeiten der klinischen Pankreasdiagnostik	16 - 17
4.2	Ausscheidungsmechanismen für Amylase	17
4.3	Einfluss der Hämodialyse auf die Serumamylase	18
4.4	Elimination injizierter Amylase	19
4.5	Stellung der Niere im Amylasestoffwechsel	19 - 20
4.6	Mögliche Stoffwechselwege der Amylase	20 - 21
4.7	Halbwertszeit und Umsatz von Amylase bei der Ratte	21 - 22
4.8	Amylaseinaktivierung durch Leberhomogenat	23 - 24
4.9	Tielergebnisse und Stoffwechsel beim Menschen	24 - 25
5.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	26
6.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	27 - 30
7.	<u>ANHANG (Tabellen und Abbildungen)</u>	Anh. 1 - 29



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554420_0037

1. EINLEITUNG

- 1.1 Das klinische Bild einer akuten Pankreatitis wird ausgelöst durch die intravitale Fermententgleisung verbunden mit einer Autodigestion des enzymbildenden Drüsengewebes. Subjektiv geht die Krankheit mit Übelkeit, Erbrechen und starken Oberbauchbeschwerden einher. Aufgrund der Vielzahl von Krankheiten, die klinisch ähnliche Bilder bieten können, kann eine Abgrenzung der Pankreatitis schwierig sein.

Eine Möglichkeit, Funktionsstörungen des Pankreas zu erfassen, ist durch die Bestimmung der alpha-Amylase in Serum und Urin gegeben. Obwohl Amylase vom Pankreas ins Duodenum sezerniert wird, findet sich auch im Serum Amylase, deren Konzentration beim Gesunden zwischen 70 und 300 mU/ml schwankt (1). Besser als mit der Bestimmung der Serumamylasekonzentration erfasst man den Verlauf einer Pankreatitis allerdings mit der Bestimmung der Amylaseausscheidungsrate (2). Der grosse Vorteil dieser Methode liegt darin, dass im Urin noch 3-4 Tage nach Normalisierung der Serumwerte pathologische Erhöhungen festzustellen sind. Trotz der im Tagesablauf wechselnden Ausscheidungsrate (3) genügt nach Meinung verschiedener Autoren (2, 4, 5) die Bestimmung der Exkretionsrate nach 1 - 2-stündiger Sammelperiode für die klinische Diagnostik. Die Amylaseausscheidungsrate unterliegt weder einem gesetzmässigen Einfluss durch die Diurese noch findet man eine direkte Beziehung zur Enzymkonzentration im Serum. Leider zeigen aber

nur 78 % der Patienten mit Pankreatitis eine pathologische Amylaseexkretion im Harn. Deutlich höher liegt die Treffsicherheit, wenn die Serumlipase bestimmt wird, nämlich bei 90-92 % (6). Diese Methode ist jedoch labortechnisch und zeitlich viel aufwendiger und hat sich daher in der klinischen Routine bis jetzt nicht durchsetzen können.

- 1.2 Die Tatsache, dass die Serumamylase bei Pankreatitiskranken innerhalb von 3 - 4 Tagen von hoch pathologischen Werten bis in den Normbereich fällt, steht in deutlichem Widerspruch zu den noch nach 7 - 11 Tagen erhöhten Urinamylasewerten. (2). Obgleich die Amylase mit einem Molekulargewicht von 48 000 an der oberen Grenze der Nierengängigkeit steht, glaubt man, dass sie vorwiegend über die Niere ausgeschieden wird. Die Bestimmung der Amylaseclearance beim Menschen, 1956 von Mc Geachin und Hargan (7) erstmals ausgeführt, ergab für Männer einen mittleren Wert von $2,08 \pm 0,18$ ml/min und für Frauen von $1,52 \pm 0,15$ ml/min. Spätere Untersuchungen zeigten für die Speichelamylase einen um 50 % niedrigeren Clearancewert als für die Pankreasamylase (8). Solange die Niere allerdings mindestens 0,5 ml Urin pro Minute ausscheidet ist die Amylase von der Urinproduktion selbst unabhängig. Mc Geachin et al (7) interpretieren diese Beobachtung dahingehend, dass nur eine Filtration und keine Resorption vorliegt. Spätere Untersucher bestätigen diese Schlussfolgerung (9).

- 1.3 Da die Amylaseclearance nur ungefähr 3 % der endogenen Kreatininclearance beträgt und andererseits

die Clearance von Proteinen gleichen Molekulargewichtes höhere Werte aufweisen (9), liegt die Vermutung nahe, dass noch ein anderer, extrarenaler Weg der Elimination vorliegt (10). Im Tierversuch sind die Hinweise noch deutlicher. Aus Studien an Hunden folgerten Hiatt und Bonorris 1966 (11), dass ein zusätzlicher extrarenaler Ausscheidungsweg vorliegen muss. Hunde scheiden nämlich trotz eines 3 bis 5-fach höheren Serumspiegels weniger alpha-Amylase im Harn aus als der Mensch. Ähnliche Ergebnisse veröffentlichten Eto et al (12).

In der Literatur wurden mehrere Möglichkeiten zur Eliminierung des Enzyms diskutiert. Einerseits wird ein Inhibitor vermutet (13, 14), der sich durch Verdünnen oder Elektrophorese beseitigen liess, andererseits wird die Leber als mögliches Abbauorgan für die Amylase erwogen (11). Um einen Einblick in den Stoffwechsel der Amylase zu erhalten, der einen Teil dieser Fragen lösen könnte, wurden die folgenden Untersuchungen durchgeführt.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1 Hämodialysepatienten

Um das Verhalten der Serumamylase beim Menschen mit minimaler Nierenfunktion zu erfassen, wurden 24 Patienten des Dialyseprogramms der I. Medizinischen Klinik der Universität Mainz untersucht. 1,0 ml Nativblut jedes Patienten wurde auf seinen Amylasegehalt hin vor und nach der Dialyse mit der Phadebas-Methode getestet (16). Eine Pankreatitis und eine Hepatopathie wurden anamnestisch und laborchemisch (Transaminasen) ausgeschlossen. Zusätzlich wurden noch die Werte für Harnstoff und Kreatinin aus dem klinischen Labor übernommen.

2.2 Amylaseinjektion bei Ratten

Weibliche Sprague-Dawley-Ratten von 180 - 220 g Körpergewicht wurden in Äthernarkose operiert und im Zwangskäfig über 4 - 7 Stunden gehalten, wobei die Tiere wieder wach waren und freien Zugang zu Wasser hatten. Im Einzelnen wurden folgende Eingriffe durchgeführt. Zuerst wurde ein Katheter (alle Katheter bestanden aus PVC) in die rechte Vena cava superior gelegt und dorsal durch die Halshaut geführt. Ein zweiter Katheter wurde in die Vena femoralis geschoben und das Bein fixiert. Zum Anlegen einer Gallefistel wurde ein Katheter proximal des Pankreas in den Ductus choledochus eingeführt und dieser distal abgebunden. Durch die rechte Flanke wurde dieser Schlauch nach aussen gezogen. Schliesslich wurde ein Harnblasenkatheter gelegt und mit einer Hautnaht fixiert. Am Ende der Operation wurden die Tiere

in einen Zwangskäfig gesetzt und die beiden Venenkatheter an einen Perfusator angeschlossen (Braun Melsungen), der insgesamt 1,4 ml physiologische Kochsalzlösung pro Stunde infundierte. Galle und Urin wurden in Reagenzgläschen gesammelt, die in Eis standen (Tab, 4 - 11).

Nach 60 - 120 Minuten, wenn Galle und Urin gleichmässig sezerniert wurden, begann die Sammelperiode. Innerhalb von zwei Minuten wurden durch einen der beiden Katheter 1 ml 0,9 % Kochsalzlösung mit 1 mg Schweinepankreasamylase (255 - 374 Units) injiziert. Dieses von der Firma Merck hergestellte Enzym lässt sich leicht in physiologischer Kochsalzlösung und Wasser aufbereiten und behält bei Kühlschranktemperatur (4° C) aufbewahrt seine Aktivität über Wochen nahezu konstant. Nach Ablauf von 10 Minuten wurden 0,25 ml Blut aus dem anderen Katheter entnommen. Bis zur Normalisierung der Serumamylase wurden nun stündlich die Sammelröhrchen gewechselt und Blutbestimmungen durchgeführt.

2.3 Amylase bei nephrektomierten Ratten

Zur Beurteilung der Funktion der Niere bei der Ausscheidung der Amylase wurde folgende Versuchsanordnung gewählt. Als Vergleichskollektive dienten zwei Gruppen von je 5 weiblichen Ratten von 180 - 220 g Körpergewicht. Die Tiere der ersten Gruppe wurden nach Entnahme von 0,3 ml Blut durch Herzpunktion (17) in Äthernarkose laparotomiert und beidseitig nephrektomiert. Anschliessend erfolgte eine Injektion von 1 mg Schweinepankreasamylase (ca. 300 Units) gelöst in physiologischer Kochsalzlösung in die untere Hohlvene. Zehn Minuten

später und in stündlichen Abständen wurden 0,3 ml Blutproben durch Herzpunktion gewonnen. Die Kontrolltiere (2. Gruppe) wurden ebenfalls laparotomiert und injiziert aber nicht nephrektomiert (Tab. 2, 3, 16).

2.4 Inkubationsversuche

Die Durchführung dieses Versuchsabschnittes erfolgte zur Feststellung einer Inhibitorwirkung verschiedener Organsuspensionen der Ratte auf zugegebene alpha-Amylase. Organspender waren gleichaltrige, weibliche Laborratten. Nachdem das jeweilige Tier mit Äther betäubt worden war, wurden je 2 g Muskel und Leber, 2 ml Serum und beide Nieren gewonnen. Die weitere Aufbereitung erfolgte ohne Unterbrechung in eisgekühlten Bechergläsern und Reagenzgläschen. Die Homogenatbereitung verlief folgendermassen: Zugabe von je 6 ml eisgekühlter physiologischer Kochsalzlösung zu Leber und Serum, von 4 ml zu 1,3 g Nierengewebe und von 10 ml zu kleingeschnittenem Muskel. Danach wurden alle Proben eine Minute hochtourig im Ultra-Turrax homogenisiert. Die ersten Amylasebestimmungen erfolgten nach zehn Minuten Stehen bei 4° C in jeweils 2 ml Gemisch nach der Phadebas-Methode (1, 16). Eine eventuelle Hemmwirkung in den einzelnen Gemischen sollte durch die Zugabe von 0,2 ml Amylaselösung 1:50 in physiologischer Kochsalzlösung mit 2 % Rinderalbumin nachgewiesen werden. Das weitere Vorgehen soll am Beispiel des Lebergewebes erläutert werden. Der Vorgang bei den anderen Gewebeproben ist vollkommen analog. Nach Beimischen von 0,2 ml Amylaselösung (etwa 10 000 mU) zu 1,8 ml Leberhomogenat und 1,8 ml NaCl-Lösung

sowie einem gleich grossen Volumen Albuminlösung zu den zugehörigen Kontrollproben (Leberhomogenat und NaCL), wurden die einzelnen Aktivitäten gemessen. Die Amylasekonzentration in dem Leber-Amylasegemisch konnte jetzt auf zwei Wegen bestimmt werden. Einmal durch den Enzymansatz und zum anderen rechnerisch mit Hilfe der Kontrollansätze.

Beispiel mit fiktiven Zahlen:

1) 2,0 ml Leberhomogenat	: 300 mU/ml
2) 1,8 ml Leberhomogenat + 0,2 ml Amylaselösung	: 1100 mU/ml
3) 1,8 ml NaCL + 0,2 ml Amylase- lösung	: 1000 mU/ml
4) 1,8 ml NaCl + 0,2 ml Albumin- lösung	: 0 mU/ml

Addiert man die Aktivität von Ansatz 1) (abzüglich 10 %, da 0,2 ml zur Homogenatbestimmung eingesetzt wurden) mit der von Ansatz 3) so erhält man die theoretische Aktivität Leber-Amylasegemisch.

Diese beträgt im obigen Beispiel 1270 mU/ml. Dieser Wert wurde gleich 100 % gesetzt und mit dem gemessenen Wert verglichen z.B. 2) (Tab. 12 - 15).

2.5 Amylasetest

Zahlreiche Methoden zur Amylasebestimmung sind bisher in der Literatur angegeben worden (18). Folgende Prinzipien liegen diesen Bestimmungen zugrunde: 1): Viskosimetrisch (bei der Hydrolyse von Stärke durch Amylase nimmt die Viskosität ab); 2) : Saccharogen (das heisst, die durch Abbau frei werdenden Oligosaccharide mit ihren reduzierenden Gruppen werden gemessen) und 3) : amyloklastisch

(wobei die Menge noch verbleibender Stärke am Ende der Enzymreaktion mit Hilfe des Jod-Stärke-Komplexes photometrisch bestimmt wird). Diese letzte Methode hat in vielen Variationen die weiteste Verbreitung gefunden. Neben ihren Vorteilen, wie zum Beispiel leichte Ausführbarkeit, hat sie noch eine Reihe von Nachteilen (19). Die Intensität des gebildeten Farbstoffkomplexes ist abhängig von der Wahl der Stärke und vom pH-Wert der Lösung. Ferner stört die Anwesenheit von Protein in der Probe, das Jod zum Teil abbindet und damit eine Verfälschung der Ergebnisse erwarten lässt.

2.5.1 Einen grossen Fortschritt bedeuten die neueren sogenannten colorimetrischen Verfahren (1, 6, 20, 21, 22). Ihr Prinzip besteht darin, dass Amylase aus einem Stärkefarbstoffkomplex niedermolekulare Zucker mit dem entsprechenden Farbstoff freisetzt. Dieser kann dann photometrisch gemessen werden. Für unsere Amylasebestimmungen verfeinerten wir einen Test mit Amylopektin-Azur, über den schon eingehend berichtet wurde (21, 23). In manchen Versuchen wurde der Phadebas-Test (1, 16) benutzt. Auch bei diesem haben wir den Einfluss von Bilirubin, Protein, Hämoglobin und Lipoiden als mögliche Störfaktoren untersucht.

2.6 Berechnung des Grundumsatzes nach Dost (24)

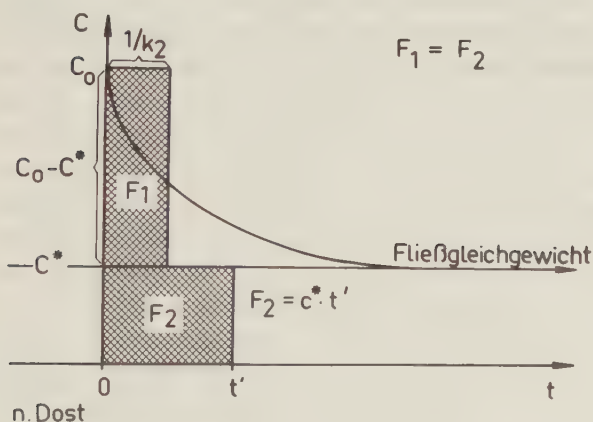
"Zur Ermittlung des Umsatzes von Metaboliten" kann man nach Dost "von der Konzeption ausgehen, dass die unter den Konzentrationsverläufen befindlichen Flächen mit den tatsächlichen Umsätzen durch das Verhältnis einfacher Proportionalität verbunden sind".

$$F_1 = \frac{c_0 - c^*}{K_2}$$

$$K_2 = -\frac{\ln 2}{t_{1/2}}$$

$$F_2 = c^* \cdot t'$$

$$\text{Aus } F_1 = F_2 \text{ folgt } t' = \frac{c_0 - c^*}{K_2 \cdot c^*}$$



Dabei bedeuten:

F_1 ist die Fläche unter der exponentiell verlaufenden Konzentrationskurve nach Amylaseinjektion, bis wieder ein Steady-state (c^*) erreicht ist. Diese Fläche ist der gegebenen Dosis D proportional.
 c_0 : die Ausgangskonzentration erhält man zeichnerisch, indem man die Konzentration- / Zeit-Werte in ein halblogarithmisches Diagramm überträgt (Abb. 4). Verfolgt man die entstandene Gerade bis zum Punkt t_0 (= Zeitpunkt der Bolusinjektion) zurück, kann man c_0 ablesen. t' ist die Zeit, in welcher

die gleiche Menge an Substanz im Fließgleichgewicht über das Blut dem Umsatz zugeführt wird, wie sie der injizierten Dosis dieser Substanz entspricht.

F_2 entspricht der Fläche, die sich aus dem Produkt aus t' und der Konzentration bei steady-state ergibt.

K_2 ist die Eliminationskonstante, die $t_{1/2}$ umgekehrt proportional ist.

3. ERGEBNISSE

3.1 Sollte die Niere beim Menschen das einzige Ausscheidungsorgan für die Amylase sein, so müssten Patienten mit einem chronischen Ausfall der Nierenfunktion ständig steigende Enzymspiegel aufweisen. Die physiologische Streuung dieses Enzyms wurde bei 24 klinisch gesunden Personen (14 Männer und 10 Frauen im Alter von 25 - 55 Jahren) ermittelt. Dabei ergaben sich Normwerte, die bei 219 ± 68 (SD) mU/ml lagen. Ziel dieser Untersuchungen waren 24 Patienten, die wegen einer renalen Kreatininclearance unter 10 ml/min seit über 6 Monaten hämodialysiert wurden. Es lagen bei dieser Gruppe, die aus 14 Männern und 10 Frauen im Alter von 20 - 60 Jahren bestand, weder anamnestisch noch klinisch oder laborchemisch Hinweise für weitergehende Krankheiten speziell des Pankreas oder der Leber vor. Die Serumamylasebestimmungen erfolgten jeweils vor und nach einer Hämodialyseperiode.

Um die Frage zu prüfen, ob die beiden Mittelwerte $\bar{u}_{\text{vor}}$ (vor Dialyse) und $\bar{u}_{\text{nach}}$ (nach Dialyse) gleich sind, wurde ein t-Test für verbundene Stichproben angewandt. Die Nullhypothese lautet:

$$H_0: \bar{u}_{\text{vor}} = \bar{u}_{\text{nach}} \quad ; \quad H_1: \bar{u}_{\text{vor}} \neq \bar{u}_{\text{nach}}$$

$$\text{Ergebnis: } t_{\text{berechnet}} = 1.320;$$

$$t_{\text{tabelliert}} \left(\begin{smallmatrix} 5\% \\ n=24 \end{smallmatrix} \right) = 2.069;$$

d.h. die beiden Mittelwerte unterscheiden sich nicht signifikant auf dem 5 % - Niveau der Irrtumswahrscheinlichkeit. Die Nullhypothese ist daher anzunehmen.

Zwischen der Kontrollgruppe und den Dialysepatienten unterschieden sich die Mittelwerte signifikant voneinander; ($t_{\text{ber.}} = 4.329$ und 5.559 ; $t_{\text{tab.}} (1\%; n = 24) = 2.690$). Insgesamt war aber bei den Hämodialysepatienten in keinem Fall eine Erhöhung des Serumamylasespiegels auf mehr als das zweifache der Norm zu finden (Tab. 1, Abb.1).

2 Um die Wertigkeit, die der Niere bei der Ausscheidung der Serumamylase bei Ratten zukommt zu erfassen, wurden fünf ungefähr 200 g schwere weibliche Tiere laparotomiert und nephrektomiert. Eine Injektion von 1 mg Schweinepankreasamylase (Merck) in 1,0 ml physiologischer Kochsalzlösung in die obere Hohlvene sollte eine starke Belastung des Organismus mit diesem Enzym bewirken. Kurz zuvor wurden 0,2 ml Blut zur Leerwertbestimmung an gleicher Stelle entnommen. Zehn Minuten nach der Injektion war eine erste Herzpunktion festgesetzt (17), um die mittlerweile von ca. 2000 mU/ml auf ca. 10000 mU/ml angestiegene Enzymkonzentration zu erfassen. Nach vier weiteren stündlich durchgeführten Punktionen war der Versuch beendet. An fünf vergleichbaren Ratten (gleiches Alter, gleiches Geschlecht), die einer sogenannten Sham-Operation unterzogen worden waren, d.h. die die Amylaseinjektion ohne Nephrektomie aber unter sonst gleichen Bedingungen erhielten, wurden die Vergleichswerte ermittelt. Die Funktion der Niere, dargestellt anhand der Ausscheidungsprozente, wird bei der Kontrollgruppe deutlich durch einen Abfall der Anfangskonzentration von 100 % auf 8.7 ± 5.2 % innerhalb von 4 Stunden. Die Halbwertszeit der Amylase betrug bei diesen Tieren 57.50 ± 10.99 Minuten. Wie erwartet, zeigte sich bei den

Ratten ohne Nierenfunktion kein Rückgang auf normale Serumamylasekonzentrationen. Immerhin waren auch von diesen Tieren bei Versuchsende 62,1 % eliminiert worden. Durch die Nephrektomie bedingt, fand sich bei dieser Gruppe eine auf $137,26 \pm 25,23$ min verlängerte Halbwertszeit. Die Einzeldaten sind in den Tabellen 2 und 3 zu finden; bei der graphischen Darstellung des prozentualen Konzentrationsabfalles der Amylase (Abb. 2) fällt vor allem die fast parallele Anordnung der beiden Kurven in den letzten beiden Stunden des Versuches auf.

- 3.3 Die Frage, welcher Anteil absolut von der Niere bei der Amylaseausscheidung übernommen wird, sollte durch eine Infusionsstudie beantwortet werden. Testobjekte waren 15 Laborratten, wovon die Hälfte als Kontrollgruppe fungierte. Zuerst wurde der Urin der Tiere, die einer Sham-Operation unterzogen worden waren, über fünf Stunden gesammelt und das Volumen anschliessend mit der Amylasekonzentration multipliziert. Diese Menge geteilt durch die Sammelzeit in Stunden soll die sogenannte Basalexkretion sein. Diese schwankte zwischen $4,0 \pm 2,0$ U/h (Tab. 4, 5, 6). Die gleichzeitig mitgesammelte Galle enthielt so wenig Amylase, dass eine Berücksichtigung dieser Menge nicht nötig erschien. Bei den eigentlichen Versuchstieren erreichte die Serumamylasekonzentration nach 6 - 7 Stunden wieder angenähert den Ausgangswert, sodass die Versuchsdauer auf 7 Stunden begrenzt werden konnte. Die Körpergewichte der Tiere, die sowohl die Operation als auch die Versuchsdauer gut tolerierten, änderten sich nicht mehr als ± 7 g im Vergleich zum

Ausgangswert. Für die gute körperliche Verfassung der Tiere, insbesondere von Seiten des Herzens und der Niere, spricht weiterhin die Tatsache, dass hier die gleichen Halbwertszeiten gemessen werden konnten, wie bei den Kontrolltieren der Nephrektomiestudie (Tab.2). Diese waren nur laparotomiert worden und konnten sich anschließend frei bewegen, so daß weitgehend normale Lebensbedingungen gegeben waren.

Der typische Kurvenverlauf für die Serum- und Gallenamylasekonzentration sowie für die Amylaseausscheidung im Urin nach i.v.Injektion dieses Enzyms ist der Abbildung 3 zu entnehmen. Die Einzelparameter aller Versuchstiere sind in den Tabellen 7, 8, 9 angeführt. Die mit Amylase belasteten Tiere schieden das Enzym zu über 48 % mit dem Urin aus. Nur ein Hundertstel dieser Menge war in der gesammelten Galle aufzufinden. Dieser geringe Anteil wurde in die weiteren Berechnungen nicht aufgenommen. Die Amylasemenge, die im Urin der Versuchstiere unter der Berücksichtigung der sogenannten Basalexkretion gefunden wurde, schwankte zwischen 25 und 77 % gemessen an der injizierten Enzymdosis (Tab.10). Zur Berechnung der Halbwertszeit und des Grundumsatzes wurden die Arbeiten von Dost (24) und Gladke (25) zugrunde gelegt. (Siehe Kapitel Material und Methode). Aus Tabelle 11 sind die Zahlenangaben für die pharmakokinetischen Parameter Eliminationskonstante K_2 , fiktive Ausgangskonzentration minus Leerwert $c_0 - c^*$ und die Zeit t' zu entnehmen. Die aus diesen Grössen errechnete Halbwertszeit $t_{1/2}$ betrug 60 ± 11 min. ($t_{1/2}$ ist die Zeit, in der die Serumamylasekonzentration um die Hälfte abnimmt). Als mittlerer Amylaseumsatz errechnete

sich ein Wert von 358 ± 132 Units pro 24 h. Gemessen an der geringen Amylaseclearance der Rattenniere von $0,04 \pm 0,01$ ml/min (Tab. 6) erscheint diese Umsatzrate sehr hoch.

- 3.4 Es stellt sich ganz zwangsläufig die Frage, wo die nicht im Urin ausgeschiedene Amylase verstoffwechselt wurde. Da es sich beim Verschwinden eines Enzyms aus dem Organismus nicht um eine Ausscheidung im ursprünglichen Sinne handeln muss, sollte auch eine Inaktivierung in Betracht gezogen werden. Wie schon im Kapitel Material und Methode beschrieben, wurde der Einfluss verschiedener Organhomogenate der Ratte auf zugegebene Schweinepankreasamylase untersucht. Als Kontrolle fungierte eine 0,9 %-ige Kochsalzlösung mit 2% Rinderalbumin, der die gleiche Menge Amylase zugesetzt wurde wie den Organhomogenaten. Da in der Kochsalzlösung nie eine Extinktion gemessen werden konnte, entsprach der Wert nach Zugabe des Enzymes der Konzentrationssteigerung, die auch die Organhomogenate erfahren mussten, falls keine Hemmung oder Aktivierung eintrat. Im Vergleich mit der zu erwartenden Amylasekonzentration lagen die Werte für Serum, Niere und Muskel über 100 %, nämlich bei 110 ± 6 , 108 ± 12 und 116 ± 15 % (Tab. 13, 14, 15).
- Eine signifikant niedrigere Konzentration der Amylase als erwartet, genau 87 ± 8 % wurde jedoch bei den Leberhomogenaten gefunden (Tab. 12).

4. DISKUSSION

4.1 Obwohl beim Menschen und vielen Tierarten Amylase im Serum vorkommt, ist bis heute die physiologische Bedeutung unklar (26). In jüngster Zeit konnten mit Hilfe moderner Elektrophoreseverfahren diejenigen Organe bestimmt werden, die zur Serumamylase beitragen (26, 27, 28). Dabei konnte nachgewiesen werden, dass etwa die Hälfte der Serumamylase aus dem Pankreas stammt und der restliche Anteil vorwiegend aus den Speicheldrüsen (8, 27). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass tierexperimentelle Unterbindung des Pankreasganges (28) und Pankreatitis beim Menschen (27) zu einer Erhöhung der Serumamylase führen, die ausschliesslich durch Isoamylasen aus dem Pankreas bedingt ist. Diese erst neuerdings wissenschaftlich fundierten Kenntnisse wurden schon lange empirisch für die klinische Diagnostik der akuten Pankreatitis verwendet, indem nämlich der Anstieg der Serumamylase als wichtigster Indikator für das Vorliegen dieser Krankheit galt.

Da das Pankreas durch seine retroperitoneale Lage weder der Palpation noch den röntgenologischen Untersuchungsmethoden gut zugänglich ist, kommt den laborchemischen Bestimmungen zur Erfassung krankhafter Veränderungen grössere Bedeutung zu. Die Bestimmung der Amylase als eines von zehn peptischen Enzymen ist besonders leicht durchführbar, weshalb in den Veröffentlichungen der letzten Jahrzehnte vorwiegend die Häufigkeit der Serumamylaseerhöhungen bei akuter Pankreatitis untersucht wurde.

Entgegen den Erwartungen fanden sich nur in ca. 65 % aller Fälle, die klinisch als Pankreatitis imponierten, pathologische Erhöhungen der Serumamylase.(5) Wenn auch die Messung der Ausscheidung des Enzyms im Urin die Trefferquote auf 75 % erhöhte, wäre dabei jedoch kritisch zu vermerken, dass in den meisten dieser Veröffentlichungen die Diagnosen nicht bioptisch bzw. autoptisch gesichert waren (3).

4.2 Es drängt sich die Frage auf, warum zwischen dem klinischen Bild der Pankreatitis und der Serumamylase keine bessere Korrelation besteht, insbesondere warum im Urin noch erhöhte Enzymkonzentrationen gefunden werden, wenn der Serumspiegel sich schon normalisiert hat. Mc. Geachin et al. (7) haben 1956 beim Menschen die renale Clearance der Amylase mit 2.08 ± 0.18 ml/min für Männer und 1.52 ± 0.15 ml/min für Frauen bestimmt. Obgleich diese Clearancewerte sehr niedrig liegen, besteht allgemein die Auffassung, dass die Serumamylase ausschliesslich über den Urin eliminiert wird. Diese Hypothese steht jedoch im Widerspruch zu der klinischen Erfahrung der raschen Normalisierung der Serumkonzentration (26). Die vorliegenden eigenen Untersuchungen haben sich daher mit der Frage beschäftigt, inwieweit die Nieren das wichtigste oder gar einzige Exkretionsorgan für die Serumamylase darstellen und ob es möglich ist, andere Eliminationswege der Amylase zu identifizieren.

4.3 Wenn die Nieren das einzige Exkretionsorgan für die Serumamylase darstellen, dann müsste bei Patienten ohne Nierenfunktion immer ein sehr hoher Amylasespiegel gefunden werden. Es wurde daher der Serumamylasespiegel bei 24 Hämodialysepatienten bestimmt, deren Kreatininclearance unter 10 ml/min lag. Die Serumwerte der dialysierten Patienten waren gegenüber der Kontrollgruppe zwar erhöht, doch bei keinem Patienten lag der Amylasespiegel über dem zweifachen der Norm. Die aufgehobene Nierenfunktion allein bietet keine Erklärung für diesen geringen Unterschied, denn auch bei Patienten, die im Koma uraemicum sterben, wird kein abnorm hoher Spiegel der Amylase beobachtet. Es könnte der Einwand erhoben werden, daß die Hämodialyse auch zu einer Senkung der Serumamylase führt, die in den folgenden Tagen entsprechend den harnpflichtigen Substanzen wieder ansteigt. Die Bestimmung der Serumamylase vor und nach 12-stündiger Blutwäsche mit annähernd 400 l Spülflüssigkeit pro Patient ergaben jedoch keinen signifikanten Unterschied (auf dem 5 % Niveau der Irrtumswahrscheinlichkeit). Damit ist die Möglichkeit der Amylaseelimination durch Dialyse praktisch ausgeschlossen. Als Erklärung für den relativ niedrigen Amylasespiegel bei diesen Patienten kommen zwei weitere Möglichkeiten in Betracht. Erstens die Elimination erfolgt über andere Stoffwechselwege oder zweitens, das Pankreas synthetisiert weniger Amylase, so daß der Umsatz im Blut stark herabgesetzt ist. Da bei keinem Patienten klinische Hinweise für eine Pankreasinsuffizienz bestanden, wurde kein Pankreozymin-Sekretin-Test durchgeführt.

4.4 Um diese Möglichkeit jedoch auszuschliessen, wurden Tierstudien unternommen. Bei frisch laparotomierten Ratten, deren Pankreas während der Operation nicht berührt worden war, wurde die Elimination intravenös applizierter Amylase bestimmt. Die Serumhalbwertszeit dieses Enzyms mit 58 ± 11 min. (Tab. 2) zeigte eine genaue Übereinstimmung mit den Werten, die sich bei den Tieren der Amylaseinjektionsstudie fanden. Die kurze Halbwertszeit bedingte eine Enzymelimination von 91 % der injizierten Dosis nach 4 Stunden. Wie zu erwarten, stiegen diese Stoffwechselfparameter bei den nephrektomierten Versuchstieren an. Immerhin wurden aber auch von diesen 62 % der injizierten Amylase verstoffwechselt, was sich in der entsprechend längeren Halbwertszeit von 137 ± 25 min. widerspiegelt (Tab. 3).

Zusätzlich muss berücksichtigt werden, daß als Folge der Nephrektomie die körpereigene Amylase im Serum nach 4 Stunden um etwa 75 % angestiegen war, wie die Kontrollgruppe beweist (Tab. 16). Dieser Befund bedeutet, daß tatsächlich noch mehr als 62 % der injizierten Amylase verstoffwechselt werden.

4.5 Andererseits bestätigen diese Befunde die Beobachtung bei den Hämodialysepatienten, daß die Nieren zum Abbau der Serumamylase nicht unbedingt erforderlich sind. Ferner kann damit die Möglichkeit weitgehend ausgeschlossen werden, daß bei der minimalen Nierenfunktion der Hämodialysepatienten die Serumamylase deswegen nicht höher ansteigt, weil aus dem Pankres weniger Amylase in das Serum

gelangt. Vielmehr haben die vorliegenden Versuche bewiesen, dass die Niere nicht den einzigen und wichtigsten Eliminationsweg für die Serumamylase zumindest bei der Ratte darstellt und dass noch andere Abbauwege im Organismus für die Serumamylase existieren müssen. Diese Tatsache, dass der Umsatz der Serumamylase nicht nur von der Nieren-clearance abhängig ist, sondern noch andere Abbauwege existieren, erklärt die klinische Beobachtung sehr gut, dass die hohen Amylasespiegel bei Pankreatitis sehr rasch zur Norm zurückkehren. Während der Ausführung dieser Versuche wurden von Duan et al. (10) Ergebnisse bei Pavianen publiziert, die ebenfalls den Hauptanteil der Serumamylase nicht über die Nieren, sondern über extrarenale Abbauwege eliminieren. Diese Beobachtungen an Affen machen es wahrscheinlich, dass die oben gewonnenen Ergebnisse bei Ratten im Prinzip ebenfalls auf den Menschen übertragen werden können.

- 4.6 Um den Anteil der nephrogen eliminierten Amylase näher zu ermitteln, wurden Injektionsstudien bei normalen Ratten vorgenommen. Durch Blasenkatheter wurde eine quantitative Bestimmung der im Urin sezernierten Amylase ermöglicht. Nach den vorliegenden Ergebnissen scheiden die Ratten nur $50 \pm 25 \%$ der injizierten Amylase im Urin aus. Diese Befunde bestätigen die Schlussfolgerungen aus den vorangegangenen Versuchen, nämlich, dass die Niere nicht das einzige und wichtigste Eliminationsorgan für die Serumamylase darstellen. Ähnlich wie bei Affen, bei denen Duane et al. (10) nur rund 24 % der injizierten Amylase im Urin wiederfanden, müssen auch

bei der Ratte andere Stoffwechselwege angenommen werden. Es kommen dabei mehrere Möglichkeiten theoretisch in Betracht. Im menschlichen Schweiß hat Wohnlich (29) 1957 Spuren von alpha-Amylase nachgewiesen, die allerdings quantitativ keine Rolle spielen. Über die Lunge wird das Enzym nicht ausgeschieden. Wenn auch bisher keine genauen Messungen vorliegen über die Menge der Serumamylase, die täglich über den Darm eliminiert wird, so darf auf Grund der Ergebnisse von Beeken (15) angenommen werden, dass nicht mehr als 10 Units Amylase pro Tag über den Darm verstoffwechselt werden. Im Vergleich zu der renalen Ausscheidung bis zu 40 Units pro Stunde beim Menschen im Urin kann der gastrointestinale Verlust sehr wahrscheinlich vernachlässigt werden.

- 4.7 Da bei verschiedenen Spezies unterschiedliche Angaben über einen Amylasegehalt der Galle gemacht wurden (28, 30, 31), erschien es notwendig, diesen Ausscheidungsweg bei der Ratte zu untersuchen. In der über eine Fistel quantitativ gesammelten Galle stiegen zwar die Konzentrationen nach Amylaseinjektion deutlich an, jedoch lagen die absoluten Werte so niedrig, dass sie insgesamt nur 1/100 der Urinamylaseausscheidung betrug. Damit stellt die Galle keinen relevanten Eliminierungsweg für die Amylase dar.

Die Messung der abfallenden Amylasewerte nach der Injektion erlaubt fernerhin, die Halbwertszeit des Enzyms im Serum zu bestimmen. Dabei errechnet sich die erstaunlich kurze Dauer von 60 ± 11 min., die

dem von Duane (10) ermittelten Durchschnittswert von 83 min bei Affen nahekommt. Auch Appert et al. (32) fanden bei Hunden, die trotz hoher Serumamylase nur wenig Enzymeinheiten im Urin ausscheiden, eine Halbwertszeit von 90 - 200 Minuten.

Einen weiteren Einblick in den raschen Stoffwechsel der Serumamylase vermittelt der Gesamtumsatz, der mit den gewonnenen Ergebnissen annähernd nach Dost (24, 25) bestimmt werden kann. Dabei fand sich für die Ratte ein Gesamtumsatz von 358 ± 132 Units Amylase pro 24 Stunden. Die Sekretion über die Niere beim Normaltier betrug rund 100 Units pro 24 h (Tab. 11). Von den täglich im Serum umgesetzten 358 Units Amylase wurden also nur weniger als ein Drittel über den Urin ausgeschieden. Im Vergleich zu Halbwertszeiten anderer Enzyme, wie z.B. Serumtransaminasen mit 2-3 Tagen, liegt die Halbwertszeit der Amylase sehr niedrig.

Weiterhin wurde bei der Ratte die renale Clearance zu 0.04 ± 0.01 ml/min errechnet (Tab. 6). Für den Menschen hatten Mc Geachin et al. (7) einen Wert von 2 - 4 ml/min ermittelt. Beim Affen beträgt sie nach Duane (10) 1.5 ml/min.

Vergleicht man jedoch die Zeiten, in denen das Gesamtplasma von Amylase geklärt wird, so ergibt sich für die Ratte mit 250 Minuten ein deutlich niedrigerer Wert, als beim Affen (700 Minuten) und beim Menschen (1250 Minuten). Beim Hund, der nach Eto et al. (12) eine Clearance von 0.5 ml/min hat, errechnet sich ein Wert um 1000 min.

Dieser Vergleich macht deutlich, dass die Ratte von den bisher untersuchten Spezies am schnellsten Amylase aus dem Plasma klärt.

4.8 Nach den eigenen Versuchen waren rund 50 % der Serumamylase über andere Wege verstoffwechselt worden und nicht im Urin erschienen. Zur Klärung dieser Eliminationswege konnten Haut, Lunge und Galle ausgeschlossen werden. In einer letzten Versuchsserie wurde Amylase verschiedenen Gewebs-homogenaten der Ratte zugesetzt und nach 15 Minuten Stehen bei + 4° C untersucht. Nach den vorliegenden Tabellen (12, 13, 14, 15) hat die Leber als einziges Organ eine statistisch signifikante Hemmung der Amylaseaktivität gezeigt. Bei allen übrigen Organen war keine Verminderung, sondern eher eine Tendenz zur Erhöhung der Aktivität zu beobachten. Die Messung der Amylaseaktivität konnte durch Verdünnung des Leberhomogenates nicht aufgehoben werden, was für einen irreversiblen Prozess spricht und gegen eine reine Anlagerung und Enzymblockade.

Damit liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Leber eines der wichtigsten Abbauorgane im Amylase-stoffwechsel darstellt (11, 12). Diese Hypothese wird durch die Untersuchungen von Hiatt et al.(34) gestützt, der bei Munden J¹³¹ markierte Amylase injizierte und einen Anstieg der Radioaktivität im Lebergewebe nachweisen konnte. Dazu muss jedoch kritisch bemerkt werden, dass durch die Anlagerung von J¹³¹ das Enzymmolekül verändert wird und somit die Stoffwechselwege verändert werden können. Weiterhin ist eine Dissoziation des J¹³¹ vom Enzym in die Blutbahn nicht auszuschliessen.

Andere Autoren (26, 32, 37) haben ein Inhibitorsystem im Serum diskutiert, das die Serumamylase inaktivieren soll. Bei den eigenen Versuchen liess sich diese Tatsache nicht bestätigen, bei einer

Seruminkubation von Amylase für 15 min bei 4° C ergab sich keine signifikante Änderung der Mittelwerte beider Vergleichsgruppen (Tab.17). Inkubiert man über eine längere Zeit, so ergibt sich nach 90 min eine statistisch signifikante Verminderung der Mittelwerte um ca. 10 %. Dieser geringe Aktivitätsschwund hat jedoch quantitativ sicher keinen Einfluss auf den raschen Enzymverlust in der gleichen Zeit in vivo.

Obgleich in unseren Versuchen nach intravenöser Amylaseinjektion keine erhöhten Werte im Lebergewebe nachweisbar waren, legen die Inkubationsstudien nahe (Tab. 12, 13, 14, 15), dass die Leber das wichtigste Inaktivierungsorgan darstellt. In Serum, Muskel und Nieren wird Amylase dagegen nicht inaktiviert. Es ist wenig wahrscheinlich, dass noch andere Organe, wie Haut, Lunge, Gehirn etc. eine Rolle im Abbau der Amylase spielen.

4.0 Die gewonnenen Ergebnisse erklären, warum bei Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz bzw. nephrektomierten Ratten die Serumamylase nicht ständig weiter ansteigt, sondern sich offenbar ein neues Steady-state einstellt.

Normalerweise wird die Serumamylase von zwei Organen eliminiert, nämlich Niere und Leber. Wenn nun die Niere funktionell ausfällt, steht nur noch ein Eliminationsweg zur Verfügung. Fällt bei einem Steady-state bei unverminderter Einströmungsgeschwindigkeit von zwei Abflüssen einer aus, so muss der Spiegel der Substanz im Serum ansteigen. Da die Geschwindigkeit der Elimination direkt der Serumkonzentration proportional ist, wird diese so lange ansteigen, bis

die Ausströmungsgeschwindigkeit wieder gleich der Einströmungsgeschwindigkeit ist. Somit wird ein neues Steady-state erreicht.

Inwiefern dabei noch Enzyminduktionen in der Leberzelle bezüglich des Amylaseabbaues möglich sind, kann aus den vorliegenden Befunden nicht sicher beurteilt werden.

Wenn auch die vorliegenden Studien mehrere interessante Aspekte des Amylasestoffwechsels bei der Ratte erbracht haben, so lassen sich weder die Ergebnisse noch die Schlussfolgerungen unbesehen auf den menschlichen Stoffwechsel übertragen. Zwar gibt es sowohl bei Mensch und Ratte Isoamylasen im Serum und die Ausscheidung im Urin, aber die Relationen der Isoamylasen sind bei beiden Spezies verschieden (35, 36). Zukünftige Studien müssen klären inwiefern die Leber beim Menschen eine Rolle im Stoffwechsel der Amylase spielt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bis heute besteht die allgemeine klinische Auffassung, dass die Serumamylase einzig von der Niere aus dem menschlichen Körper eliminiert wird. Die vorliegenden Studien zeigen, daß beim Menschen mit praktisch aufgehobener Nierenfunktion der Serumamylasespiegel etwa um das Doppelte ansteigt; d.h. es bildet sich ein neues Fließgleichgewicht für das Enzym aus. Bei nephrektomierten Ratten, denen Amylase intravenös gegeben wurde, fiel die Serumkonzentration während 4 Stunden um ca. 62 % ab gegenüber der Kontrollgruppe (91 %). Weitere Versuche ergaben, dass nach i.v.Gabe von Amylase nur ungefähr 50 % der verabreichten Menge in Galle und Urin wiedergefunden werden. Somit besteht kein Zweifel, dass neben den Nieren noch mindestens ein weiteres Organ grosse Mengen Amylase aus dem Serum eliminiert. Haut, Darm und Lunge kommen dafür nicht in Frage. In vitro-Studien mit verschiedenen Organhomogenaten der Ratte zeigten, dass nur die Leber zu einer signifikanten Aktivitätsminderung der zugegebenen Amylase führt. Ob diese Funktion der Rattenleber auch für den Menschen zutrifft, muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

5. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ceska, M. et al: A new and rapid method for the clinical determination of alpha-amylase activities in human serum and urine. Optimal conditions. Clin.chim.Acta 26, 437-44 (1969)
2. Saxon, E.I.; W.Vogel and L.Zieve: Comparative value of serum and urinary amylase in the diagnosis of acute pancreatitis. Arch.intern.Med. 99, 607-21 (1956)
3. Calkins, W.G.: A study of urinary amylase excretion in patients with acute pancreatitis. Amer.J.Gastroent. 49, 415-24 (1968)
4. Eberhagen, D.: The urinary excretion of alpha-amylase in healthy persons. Z.klin.Chem.u.klin.Biochem. 8, 284-87 (1970)
5. Gambill, E.E. and H.L.Mason: One hour value for urinary amylase in 96 patients with pancreatitis. J.Amer.med.Ass. 186, 130-34 (1963)
6. Song, H.; W.Tietz and C. Tan: Usefulness of serum lipase, esterase and amylase estimation in the diagnosis of pancreatitis - a comparison. Clin.Chem. 16, 264-68 (1970)
7. Mc Geachin, R.L. and L.A. Mangan: Renal clearance of amylase in man. J.Appl.Physiol. 9, 129-31 (1956)
8. Kamaryt, J.: Nieren-Clearance der Isoamylasen beim Menschen. Z.klin.Chem.u.klin.Biochem. 7, 51-52, (1969)
9. Blainey, J.D. et al: Amylase excretion by the human kidney. Clin.Sci. 32, 377-83 (1967)

10. Duane, W.C. et al: Distribution, turnover and mechanism of renal excretion of amylase in the baboon.
J.clin.Invest. 50, 156-65 (1971)

11. Hiatt, N. and
 G.Bonorris: Removal of serum amylase in dogs and the influence of reticuloendothelial blockade.
Amer.J.Physiol. 210, 133-38 (1966)

12. Eto, K. et al: Renal excretion of amylase and lipase by dogs.
Arch.Surg. 98, 241-44 (1969)

13. Mc Geachin, R.L. and
 J.P. Lewis: Electrophoretic behavior of serum amylase.
J.Biol.Chem. 234, 795-8 (1959)

14. Theodor, E. und D.
 Birnbäum: The effect of dilution on the activity of amylase and its relation to the effect of electrophoresis.
J.Lab.clin.Med. 63, 879-84 (1964)

15. Warren, L. and M.D.
 Beeken: Clearance of circulating radiochromated albumin and erythrocytes by the gastrointestinal tract of normal subjects.
Gastroenterology 52, 35-41 (1967)

16. The Phadebas Amylase Test
 (Hrsg. v.A Herxheimer, London)
Drug Ther Bull London 2, 23-24 (1971)

17. Weis, H.J. und E.U.
 Baas: Die Herzpunktion bei der Ratte zur wiederholten Blutentnahme und Injektion.
Z.ges.exp.Med. 156, 314-16 (1971)

18. Henry, R.J. Clinical Chemistry
 5. Aufl. Los Angeles 1968
 Kapitel 17, S. 469-77

19. Lorentz, K.; A. Zander und J. Adlung: Untersuchungen zur amyloklastischen alpha-Amylase-Bestimmung.
Z.klin.Chem.u.klin.Biochem. 7,
241-49 (1969)
20. Klein, B. et al: New chromogenic substrat for determination of serum amylase activity.
Clin.Chem. 16, 32-38 (1970)
21. Kinderknecht, H. et al: A new automated method for the determination of serum alpha-amylase.
Clin.chim.Acta 29, 107-10 (1970)
22. Sax, S.M. et al: Determination of serum and urine amylase with use of procion brilliant red M-"2BS amylopectin.
Clin. chem. 17, 311-15 (1971)
23. Weis, H.J. et al: Eine verbesserte Bestimmung der Amylase mittels Amylopektin Azur.
Z.klin.Chem. u. klin. Biochem. 10,
226-229 (1972)
24. Dost, F.H.: Ein neues Verfahren zur Ermittlung des Umsatzes von Stoffen exogener und endogener Herkunft im Blut ohne Kenntnis der Distribution.
Antibiot. et Chemother. (Basel) 12, 149-58 (1964)
25. Gladtko, E.: Pharmakogenetische Prüfung der Absorption nach Dost
Antibiot. et Chemother. (Basel) 12, 159-69 (1964)
26. Janowitz, H.D. and D.A. Dreiling: The plasma amylase.
Amer.J. Med. 27, 924-35 (1959)
27. Berk, J.E.: Serum amylase and lipase. Newer perspectives.
J.Amer.med.Ass. 199, 98-102 (1967)
28. Northmann, H.M. et al: Investigations on the origin of amylase in serum and urine.
Gastroenterology 60, 82-89 (1971)

29. Wohnlich, H.: Nachweis von Amylase, alpha-Glucosidase und Phosphorylasen im menschlichen Schweiss.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 308, 197-203 (1957)
30. Mc Geachin, R.L. et al: Amylase synthesis and transport in the isolated perfused liver.
Advanc.Enzym Regulat. 2, 137-43 (1965)
31. Popper, H.L.: Pankreassaft in den Gallenwegen.
Arch.klin.Chir. 175, 660-5 (1933)
32. Appert, H.E. et al: The disappearance of intravenously injected pancreatic enzymes.
Surgery 127, 1281-87 (1968)
33. Schmidt, E. und F.W.Schmidt: Enzyμφibel.
Böhringer, Mannheim (1969)
34. Hiatt, N. et al: Hepatic disposition of ¹³¹-J labeled amylase in dogs. Comparison of enzymatic and isotop measurement.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 128, 125-30 (1968)
35. Fridlandler, L.; J.Berk and M.Ueda: Isolation and measurement of pancreatic amylase in human serum and urine.
Clin.Chem. 18, 1493-7 (1972)
36. Hammerton, K. and M. Messeri: The origin of serum amylase. Electrophoretic studies of isoamylases of the serum, liver and other tissues of adult and infant rats.
Biochim. Biophys. Acta 244, 441-51 (1971)
37. Berk, J.E. et al: Distribution of serum amylase in man and animals. Electrophoretic and chromatographic studies.
J.Amer.med.Ass. 192, 389-93 (1965)

A n h a n g
=====

Legende zu Tabelle 1

Der Einfluss der Hämodialyse auf den Serumamylase-spiegel wurde bei 24 Patienten mit einer Kreatininclearance unter 10 ml pro min. untersucht. Die Gruppe bestand aus 14 Männern und 10 Frauen im Alter von 20 - 60 Jahren. Gegenüber den Serumamylasewerten, die bei 24 klinisch gesunden Personen ermittelt wurden (gleiche Alters- und Geschlechtsverteilung) zeigten die Hämodialysepatienten signifikant höhere Enzymkonzentrationen. Ein Einfluss der Hämodialyse auf die Serumamylase konnte nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 1: Vergleich der Serumamylase bei Kontrollpersonen und Hämodialysepatienten.

Patient	Kontrolle (mU/ml)	Patient	vor Dialyse (mU/ml)	nach Dialyse (mU/ml)
1	150	25	450	480
2	160	26	470	495
3	160	27	400	455
4	165	28	300	370
5	165	29	375	150
6	175	30	660	580
7	185	31	480	530
8	190	32	210	220
9	190	33	420	470
10	208	34	255	270
11	230	35	330	320
12	235	36	265	265
13	240	37	130	390
14	300	38	240	445
15	335	39	310	225
16	340	40	430	515
17	410	41	115	240
18	212	42	310	350
19	137	43	440	420
20	240	44	335	370
21	185	45	510	440
22	265	46	330	340
23	190	47	250	310
24	200	48	265	245
Mittelwert	219.5		345.3	370.6
Standard- abweichung	68.0		125.2	114.6

Statistik: t - Test für unverbundene Stichproben

$$\text{Kontr./vor Dial. } t_{\text{ber.}} = 4.329$$

$$\text{Kontr./nach Dial. } t_{\text{ber.}} = 5.559$$

$$t_{\text{tab.}} = 2.690$$

(0.05)

t - Test für verbundene Stichproben

$$\text{vor/nach Dialyse } t_{\text{ber.}} = 1.320$$

$$t_{\text{tab.}} = 2.069$$

Legende zu Tabelle 2

Fünf Ratten wurden laparotomiert und erhielten dabei in die Vena cava inferior eine Injektion von 300 Units Schweinepankreasamylase in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung. Bei einer Halbwertszeit von 57.50 ± 10.99 min war die anfängliche Serumkonzentration (100 %) nach 4 Stunden um 91 ± 5 % abgefallen.

Tabelle 2: Serumanalyse bei Kontrollratten nach i.V. Injektion von 300 Units Amylase

Tier	Normale Serum- konz.	5 min post inj.	Serumamylase (mU/ml)				Halbwertszeit (min)
			1h	2h	3h	4h	
1	1700	11220	6800	4675	3485	2635	73.02
2	2125	16600	9010	5780	4080	3995	61.16
3	1700	14280	7990	4930	3315	2465	59.44
4	1700	10200	5185	3179	2295	1819	45.92
5	2295	15300	7888	4641	3332	4165	47.98
Mittlerer		--	53±5	76±6	88±5	91±5	AW+ SD
Abfall(%)							57.50 ± 10.99

Legende zu Tabelle 3

Fünf Ratten wurden laparotomiert, nephrektomiert und erhielten in die untere Hohlvene eine Injektion von 300 U Amylase. Der mittlere Aktivitätsverlust nach 4 Stunden betrug hier 62 ± 5 % bei einer Halbwertszeit von 137.26 ± 25.23 min.

Tabelle 3: Serumamylase bei nephrektomierten Ratten nach I.V. Injektion von 300 U Amylase

Tier	Normale Serum- konz.	5 min post. inj.	Serumamylase (mU/ml)				Tier	Halbwertszeit (min)
			1h	2h	3h	4h		
1	1921	13600	10625	8925	7310	6630	1	160.01
2	2125	14195	10591	8670	5440	6440	2	97.90
3	2040	15130	12240	9010	7990	8075	3	147.77
4	1836	10880	7905	6035	5355	4675	4	127.09
5	1275	12520	10200	7871	6460	5355	5	153.54
Mittlerer Abfall (%)		--	26±5	44±3	60±9	62±5	MW±SD	137.26 ± 25.23

Legende zu den Tabellen 4 - 6

Acht weiblichen Sprague-Dawley-Ratten im Gewicht von 180 - 220 g wurden in Äthernarkose 4 PVC - Katheter einoperiert, in die Vena femoralis, Vena cava superior, den Ductus choledochus sowie in die Harnblase. Dadurch konnten stündlich Serum-amylasespiegel, Urinamylasekonzentration als auch Urinmenge bestimmt werden. Die Galle wurde nach aussen abgeleitet um die gleichen Verhältnisse wie bei den Tieren mit der Amylaseinjektion (Tab. 7-11) zu erreichen. Bei der Bestimmung der stündlichen Amylaseausscheidung ergab sich ein Mittelwert von 4000 mU/h bei einer Standardabweichung des Mittelwertes von 2000 mU/h; die Nieren-clearance für Amylase errechnete sich zu 0.0407 ± 0.01 ml/min.

Tabelle 4: Kontrolltiere: Serumwerte (mU/ml)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Zeit (min)								
Ausgangswert	1622	1720	1300	1362	1020	1233	1781	1140
60'	2956	2331	1282	1314	1021	1191	1843	1162
120'	3140	3782	1098	1521	473	1219	1729	1200
180'	3140	3782	1337	1399	643	1285	1937	992
240'	3584	2539	1361	1323	624	1219	2003	1020
300'	3977	2176	1292	1465	803	1077	1909	813
Nittelwert	3070	3022	1426	1397	764	1205	1867	1054
Standardabweichung	801	946	379	82	225	70	102	144

Tabelle 5: Kontrolltiere: Urinamylasemenge (mU/h)

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Zeit (min)								
60'	3800	5960	2956	3568	1304	5531	6966	1177
120'	8200	6690	1472	3105	1601	3323	5552	1322
180'	3700	8100	1516	2744	1708	3406	4665	2552
240'	4400	6780	2056	2788	1495	2030	3171	2599
300'	10600	6040	1889	2150	3807	5273	8810	3851
Mittelwert	6100	6700	2000	2900	2000	3900	5800	2300
Gesamtmittelwert:								
4.000+2000 mU/h								

Legende zu den Tabellen 7 - 9:

Die sieben Versuchstiere entsprachen in Gewicht und Alter denen von Tabelle 4 - 6. Sie erhielten die gleichen Katheter einoperiert, bekamen aber zusätzlich 1 Stunde nach Operationsende 1 ml Schweinepankreasamylase i.v. injiziert. Die Dosis lag zwischen 280 und 374 Units Amylase (Tab. 10). Es wurden gemessen die Serumamylasekonzentration 10 min post injectionem und dann stündlich, sowie die stündliche Urin- und Galleamylaseausscheidung. Dabei stiegen die Serumwerte bei der ersten Messung gegenüber dem Leerwert um ca. das 10 - 12-fache an und fielen dann während des Versuches exponentiell bis zum ungefähren Ausgangswert ab. Der Kurvenabfall der Gallekonzentration war ähnlich, allerdings betrug die Gesamtausscheidung hier nur ca. 1/100 der im Urin gefundenen Amylasmenge.

Tabelle 7: Amylase im Serum (mU/ml) nach i.v. Injection von Amylase

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Leerwert	1800	1330	1390	1490	1310	1330	1440
Bolus	374000	362000	310000	308000	281000	255000	280000
Zeit nach Bolus (min)							
10	25400	18000	19940	15500	19900	24400	31100
60	16960	9500	10750	7740	12820	13080	18300
120	9970	5400	4400	4600	7700	6500	10150
180	7160	3340	2850	3450	3140	4500	6855
240	4750	2630	2300	2880	2145	3140	6540
300	3630	2340	1520	2720	1360	3030	6017
360	2000	2360	1203	2770	1130	3060	5890
420	--	--	--	2330	840	3000	5000

Tabelle 8: Amylase im Urin (mU/h) nach i.v. Injection von Amylase

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7
nach 60'	87800	44300	16650	21860	71100	85800	58860
nach 120'	84500	41000	70000	39500	39170	31110	35000
nach 180'	51300	28400	16630	15390	23370	24740	-- *
nach 240'	28320	14500	9670	8250	9670	12880	27650
nach 300'	44980	10800	--	5770	9840	16680	7000
nach 360'	9120	8500	6960*	8350	7540	13190	19900
nach 420'	--	--	--	8210	11810	31000	11260

* 2 Stunden Sammelperiode

Tabelle 2: Amylaseausscheidung in der Galle nach i.v. Injection von Amylase

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7
	mU/ml mU/h	mU/ml mU/h	mU/ml mU/h	mU/ml mU/h	mU/ml mU/h	mU/ml mU/h	mU/ml mU/h
Leerwert	320	--	52	--	230	--	108
nach 60'	884	707	360	223	940	375	421
nach 120'	1024	614	365	185	590	280	318
nach 180'	570	343	261	102	380	231	226
nach 240'	560	113	186	92	267	130	82
nach 300'	326	196	168	84	272	139	108
nach 360'	900	420	168	156	312	78	139
nach 420'	--	--	--	--	--	--	133
					57	--	90
					192	92	282
					166	71	236
					131	42	180
					96	30	126
					63	20	89
					54	17	95
					44	14	90
							62
						--	485
						168	454
						119	350
						64	287
						49	268
						49	270
						50	240
							41

Legende zu Tabelle 10

Vergleich der injizierten Amylasedosis mit der nach 7 Stunden im Urin ausgeschiedenen Menge (Tab. 4 - 9). Die während des Versuches endogen gebildete Enzymmenge ($4000 \pm 2000 \text{mU/h}$) wurde von der Gesamtausscheidung abgezogen. Setzt man die Zahl der injizierten Enzymeinheiten gleich 100 %, so scheidet die Ratte davon unter den gegebenen Bedingungen nach 7 Stunden 48.5 ± 20 % aus.

Tabelle 10: Auswertung der Amylaseinjektionsversuche

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	MW $\pm$ SD
Injizierte Amylase (U)	374	362	310	308	281	255	280	
Gesamtaus- scheidung (U)	311.5	148.3	108.1	121.3	172.8	216.0	160.3	
Gesamtaus- schdg.minus Basalaus- scheidung (U)	286.8	124.2	79.5	93.3	144.8	188.0	132.3	
Ausscheidungs- prozent der inj.Amylase- menge (%)	76.7	34.3	25.6	30.3	51.5	73.3	47.3	48.5 $\pm$ 20.0

Legende zu Tabelle 11

Die Elimination der injizierten Amylase folgt einer Exponentialfunktion. Trägt man eine solche Funktion in einem halblogarithmischen System auf, so erhält man eine Gerade. Aus deren Steigung errechnet sich die Halbwertszeit $t_{1/2}$ und die Eliminationskonstante K_2 . Gleichzeitig erhält man die fiktive Ausgangskonzentration c_0 am Schnittpunkt zwischen der Ordinate und der Kurve. Aus diesen pharmakokinetischen Daten, dem Leerwert und der Belastungsdosis errechnet sich nach Dost (24) und Gladtke (25) der Umsatz pro 24 h. Es fanden sich bei den durchgeführten Studien eine mittlere Halbwertszeit von 59.84 ± 10.84 min und ein Umsatz von 358.4 ± 131.6 Units pro 24 h.

Tabelle 11: Pharmakokinetische Konstante, Umsatz und Halbwertszeit von injizierter Amylase bei 7 Ratten

Tier Nr.	c* (mU)	c ₀ -c* (mU)	t _{1/2} (min)	k ₂ (1/h)	t' (h)	Umsatz (U/24 h)
1	1800	25432.7	78.08	0.5327	26.52	338.4
2	1330	18077.4	56.21	0.7399	18.37	472.9
3	1390	21788.6	45.09	0.9224	16.99	437.8
4	1490	13932.9	60.24	0.6903	13.55	545.7
5	1310	24227.8	52.07	0.7987	23.16	291.2
6	1330	24433.6	58.49	0.7111	25.84	236.9
7	1440	31500.9	68.73	0.6051	36.15	185.9
Mittelwert			59.84	0.7143	22.94	358.4
Standardabweichung			10.84	0.1269	7.53	131.6

Legende zu Tabelle 12

Von 12 gleichaltrigen weiblichen Ratten wurden je 2 g Leber mit 6 ml eiskühlter 0.9 % NaCl homogenisiert und in zwei Proben geteilt. Nach Bestimmung der Amylasekonzentrationen wurden zu 1.8 ml der einen Probe 0.2 ml einer Amylase-Albumin-NaCl-Lösung gegeben (Albumin 2 %, NaCl 0.9 %, Amylase ca. 2000 Units). Zu der anderen Probe kam nur 0.2 ml einer Albumin-NaCl-Lösung. Als Vergleichslösung wurden zu 1.8 ml NaCl-Lösung 0.2 ml der amylasehaltigen Lösung gegeben. In allen Proben wurde nach 15 min Stehen bei 4° C die Amylaseaktivität gemessen. Aus der Aktivität der Vergleichslösung und der reinen Homogenatverdünnung konnte der zu erwartende Wert im Gemisch aus Leberhomogenat und amylasehaltiger Lösung errechnet werden. Dieser wurde gleich 100 % gesetzt und mit der tatsächlich gemessenen Aktivität verglichen. Mit Hilfe des t-Testes zeigte es sich, dass die gemessenen Werte mit 87.4 ± 8.4 % signifikant unter dem hypothetischen Ergebnis von 100 % lagen.

Tabelle 12: Amylaseinkubation mit Leberhomogenaten der Ratte (mU/ml)

Nr.	Leber original	NaCl + Amylase	Leber + Amylase	Errechneter Wert	% der Hemmung
1	567	1094	1242	1604	77
2	612	1112	1440	1662	87
3	325	1008	1035	1301	80
4	495	855	1107	1301	85
5	280	1044	1197	1296	92
6	370	819	1170	1152	102
7	380	927	1125	1269	89
8	370	896	1008	1229	82
9	325	1012	1017	1306	78
10	405	959	1089	1324	82
11	360	914	1179	1239	95
12	395	1044	1395	1400	100

Statistik: t-Test mit einer Konstanten ($\alpha = 100\%$) $MW \pm Sg$ $87,4 \pm 8,4$

$t_{\text{ber.}}$ = 5.2

$t_{\text{tab.}}(0.01)$ = 3.106

$t_{\text{tab.}}(0.05)$ = 2.201

Legende zu Tabelle 13:

Von den ~~selben~~ Tieren wie in Tabelle 12 wurde Nierengewebe in der gleichen Verdünnung homogenisiert. Der weitere Mess- und Rechenvorgang war identisch. Die gemessenen Konzentrationen im Gemisch Nierenhomogenat mit amylasehaltiger Lösung lagen mit $107.7 \pm 11.5 \%$ statistisch auffällig über dem hypothetischen Wert von 100 %.

Tabelle 13: Amylaseinkubation mit Nierenhomogenat der Ratte (mU/ml)

Nr.	Niere original	NaCl + Amylase	Niere + Amylase	Errechneter Wert	% der Hemmung
1	873	1094	1854	1880	99
2	1602	1112	2250	2558	88
3	1008	1008	2160	1915	113
4	900	855	1728	1665	104
5	945	1044	1917	1895	101
6	460	819	1566	1233	127
7	1098	927	1998	1915	104
8	810	896	2025	1625	125
9	900	1012	1809	1901	95
10	540	959	1638	1445	113
11	430	914	1440	1301	111
12	370	1044	1548	1377	112
				NW + SD	107,7 + 11,5

Statistik: t-Test mit einer Konstanten K = 100 %

$t_{\text{ber.}}$	=	2.309
$t_{\text{tab. (0.01)}}$	=	3.106
$t_{\text{tab. (0.05)}}$	=	2.201

Legende zu den Tabellen 14 - 15

Der gleiche Versuchsansatz wie in Tabelle 12 wurde auch mit Muskelhomogenat (2 g + 10 ml NaCl) und mit Serumverdünnung (1 : 4) durchgeführt. Die Substrate stammten wieder von den selben Tieren. Sowohl für Muskelgewebe ($115.8 \pm 15.1 \%$) als auch für die Serumverdünnung (110 ± 6.3) ergaben sich signifikant höhere Messwerte.

Tabelle 14: Amylaseinkubation mit Muskelhomogenat der Ratte (mU/ml)

Nr.	Muskel original	NaCl + Amylase	Muskel + Amylase	Errechneter Wert	% der Hemmung
1	175	1094	1125	1250	90
2	250	1112	1503	1336	113
3	280	1008	1413	1260	112
4	240	855	1332	1071	124
5	118	1044	1260	1150	110
6	222	819	1305	1018	128
7	255	927	1539	1156	133
8	242	896	1557	1114	140
9	252	1012	1260	1335	94
10	161	959	1287	1104	117
11	185	914	1125	1181	104
12	352	1044	1692	1361	124
				MW $\pm$ SD	115.8 $\pm$ 15.1

Statistik: t-Test mit einer Konstanten K = 100 %

$t_{\text{ber.}}$

$t_{\text{tab.}} (0.01)$

5.665

3.106

Nr.	Serumverd. original	NaCl + Amylase	Serum + Amylase	Errechneter Wert	% der Hemmung
1	1620	1094	2565	2583	101
2	1575	1503	2700	2529	107
3	1818	1413	3015	2644	114
4	1575	1332	2700	2273	118
5	1242	1260	2178	2162	101
6	1278	1305	2376	1969	121
7	1665	1539	2565	2426	106
8	1593	1557	2610	2330	112
9	1530	1260	2583	2390	108
10	1440	1287	2610	2255	116
11	1305	1125	2268	2089	109
12	1386	1692	2520	2291	110

MW $\pm$ SD 110,3 $\pm$ 6,3

Statistik: t-Test mit einer Konstanten K = 100 %

$t_{\text{ber.}}$ = 5.665
 $t_{\text{tab. (0.01)}}$ = 3.106

Legende zu Tabelle 16

Eine Gruppe von 10 gleichaltrigen Laborratten (gleiche Tiere wie in Tab. 2 - 5) wurde geteilt; 5 Tiere wurden Nephrektomiert, die anderen 5 einer sogenannten Sham-Operation unterzogen. 4 Stunden nach der Operation wurden bei allen Tieren die Serumamylase und Serumkreatininspiegel gemessen. Dabei zeigte es sich, dass in dieser Zeit die Amylase um fast das Doppelte von 1875 ± 286 mU/ml auf 3234 ± 662 mU/ml angestiegen war; beim Kreatinin war es sogar eine mehr als dreifache Erhöhung von 0.51 ± 0.11 mg % auf 1.6 ± 0.14 mg % .

Tabelle 16: Kreatinin- und Amylasekonzentration
im Serum bei 5 Kontrolltieren und 5 nephrektomierten
Ratten 4 Stunden nach Operation.

	Kontrolle	Nephrektomie
Amylase (mU/ml)	2310	3465
	1545	2520
	1840	4200
	1955	2730
	1725	3255
MW $\pm$ SD	1875 $\pm$ 286	3234 $\pm$ 662
Kreatinin (mg %)	0.4	1.5
	0.4	1.5
	0.5	1.8
	0.65	1.7
	0.6	1.5
MW $\pm$ SD	0.51 $\pm$ 0.11	1.6 $\pm$ 0.14

Legende zu Tabelle 17

Die Amylaseaktivität von Serumverdünnungen (1:4) von 11 Ratten wurde mit den Aktivitäten verglichen, die nach 15 min Stehen bei 4° C und nach 90 min bei 37°C noch vorhanden waren. Zwischen den Ausgangswerten und den "15 min"-Gruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte; der "90 min"- Wert war signifikant erniedrigt. Allerdings betrug die Aktivitätsabnahme nur ungefähr 10 %.

Tabelle 17: Amylasekonzentration von Serumverdünnungen (1:4) der Ratte unter verschiedenen Bedingungen

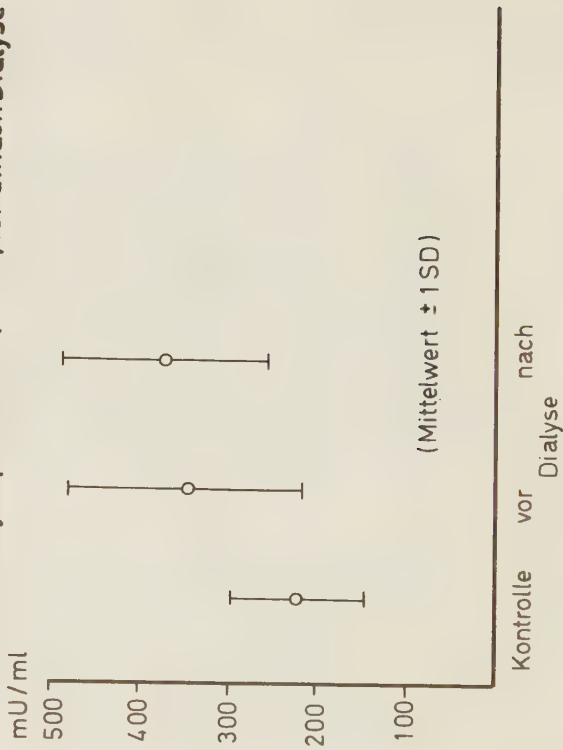
Gruppe I	I	II	III
Nr.	Leerwert (mU/ml)	15' bei 4°C (mU/ml)	90' bei 37°C (mU/ml)
1	1558	1395	1368
2	1417	1440	1413
3	1636	1710	1620
4	1417	1296	1215
5	1150	1170	1053
6	1498	1350	1341
7	1434	1386	1278
8	1387	1260	1260
9	1164	1053	1089
10	1247	1125	1125
11	1296	1384	1215
Mittelwert	1382	1324	1215
Standardabweichung	155	178	164

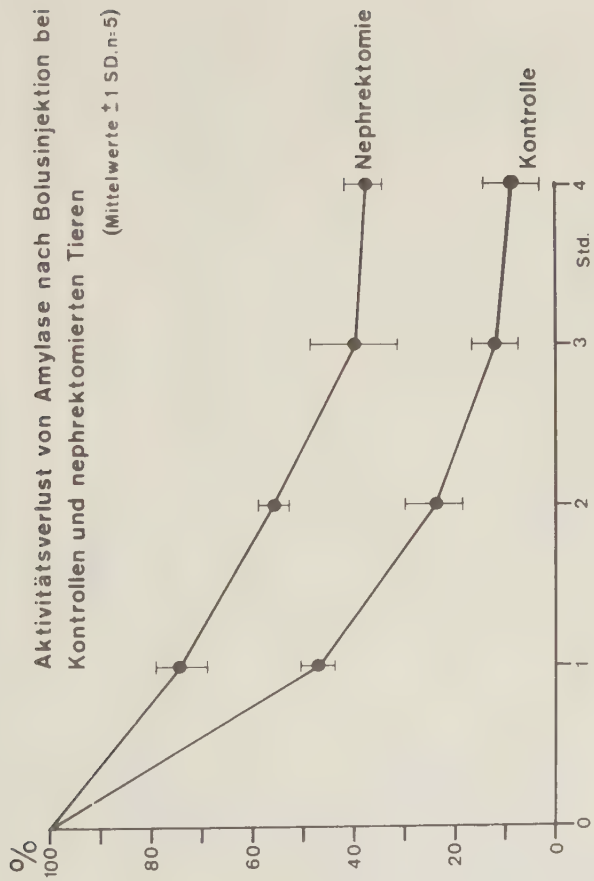
Statistik: t - Test für verbundene Werte

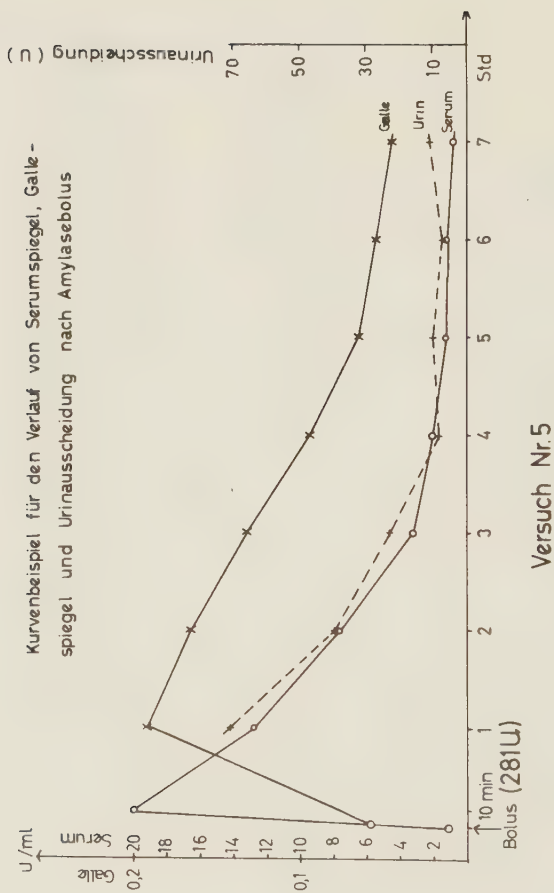
Gruppe I/II: $t_{\text{ber.}}$: 2.0616
 $t_{\text{tab.}(0.05)}$: 2.228

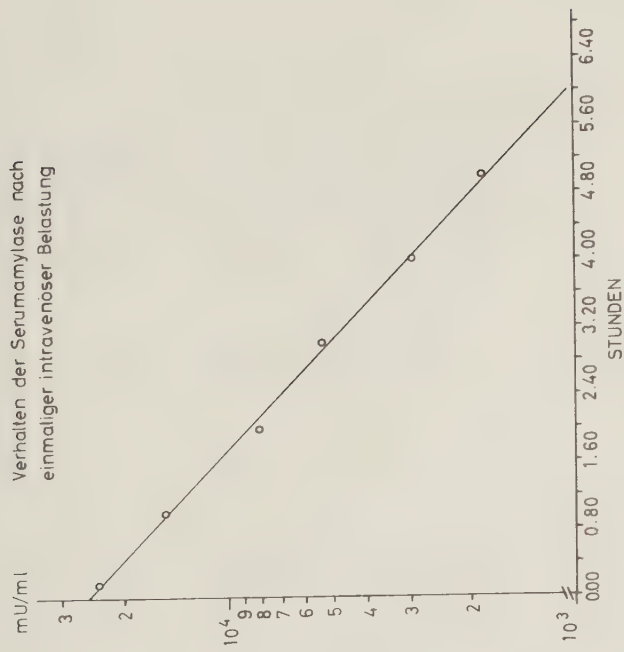
Gruppe I/III: $t_{\text{ber.}}$: 5.7151
 $t_{\text{tab.}(0.01)}$: 3.169

Serumamylasewerte von Kontrollpersonen (n=24)
und Hämodialysepatienten (n=24) vor u. nach Dialyse









Für das persönliche Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat, bin ich Herrn Prof. Dr. H. Weis zu besonderem Dank verpflichtet.

Ferner gilt mein Dank Frau Dipl.phys. Hahn für die statistische Bearbeitung und Fräulein Margot Schulz für ihre labortechnische Unterstützung.

LEBENS LAUF (tabellarisch)

Name: Hans C ö l l e
geboren am: 30. Oktober 1945
Geburtsort: München
Vater: Rudolf Cölle (Beruf: Kaufmann)
Mutter: Anneliese Cölle, geb. Kusterer
(Beruf: Hausfrau)
Ehefrau: Gisela Cölle, geb. Zwick

Schulischer
Werdegang: 1951-1956 Volksschule Pirmasens
1956-1965 Leibnitz-Gymnasium, Pirmasens
1965 Abitur

Bundeswehr: 1965-1967 Zeitsoldat
Entlassung als Leutnant d.Res.

Studiengang: -SS 1967 Immatrikulation an der Johannes
Gutenberg-Universität für das Fach Medi-
zin in Mainz
-Naturw.Vorprüfung: 20. März 1968
-Ärztl. Vorprüfung: 9. Okt. 1969
-Ärztl. Prüfung: 4. Dez. 1972

Antritt der ersten Medizinalassistenten-
stelle vom 1. April 1973 bis 30. Sept.73
am Pathologischen Institut der Johannes
Gutenberg-Universität Mainz
- 24.7.73 ECFMG-Examen in Frankfurt
- Ab 1.10.1973 Medizinalpraktikant in
der I. Medizinischen Klinik der Uni-
versitätskliniken Mainz

